

Rec'd PCT/PTO 23 MAR 2005
10/528814

DOCKET NO.: 268519US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Masaomi IYO, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP03/12134

INTERNATIONAL FILING DATE: September 24, 2003

FOR: DIAGNOSTIC AND EXAMINATION METHOD FOR EATING DISORDER

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Commissioner for Patents
Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:


COUNTRY
Japan

APPLICATION NO
2002-277218

DAY/MONTH/YEAR
24 September 2002

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP03/12134. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423

Customer Number

22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 08/03)

BEST AVAILABLE COPY

24.09.03

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

10/528814

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

| | |
|-------------------|-----|
| REC'D 13 NOV 2003 | |
| WIPO | PCT |

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年 9月24日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-277218
[ST. 10/C]: [JP2002-277218]

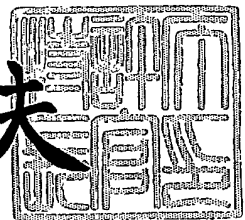
出 願 人
Applicant(s): 伊 豫 雅 臣

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年10月30日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願
【整理番号】 185668
【提出日】 平成14年 9月24日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K123:00
G01N 33/50

【発明者】

【住所又は居所】 東京都西東京市中町 5 丁目 1 7 番 2 号

【氏名】 橋本 謙二

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市花見川区幕張本郷 7 丁目 2 1 番 1 5 号

【氏名】 伊豫 雅臣

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県習志野市藤崎 7 丁目 8 番 1 4 号

【氏名】 中里 道子

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市中央区亥鼻 1 丁目 8 番 1 号 千葉大亥鼻宿
舎 2 0 1

【氏名】 清水 栄司

【特許出願人】

【住所又は居所】 千葉県千葉市花見川区幕張本郷 7 丁目 2 1 番 1 5 号

【氏名又は名称】 伊豫 雅臣

【代理人】

【識別番号】 100062144

【弁理士】

【氏名又は名称】 青山 葆

【選任した代理人】

【識別番号】 100086405

【弁理士】

【氏名又は名称】 河宮 治

【選任した代理人】

【識別番号】 100068526

【弁理士】

【氏名又は名称】 田村 恭生

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013262

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 摂食障害の診断薬

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 抗脳由来神経栄養因子抗体を主成分とすることを特徴とする摂食障害の診断薬。

【請求項 2】 患者の血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定するための請求項 1 記載の摂食障害の診断薬。

【請求項 3】 抗脳由来神経栄養因子抗体および標識化抗脳由来神経栄養因子抗体からなる請求項 1 または 2 記載の摂食障害の診断薬。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、摂食障害の診断薬に属する。さらに詳しくは抗脳由来神経栄養因子抗体を主成分とすることを特徴とする摂食障害の診断薬に関する。

【0 0 0 2】

【従来技術】

摂食障害である神経性無食欲症(拒食症：anorexia nervosa(A N))、および神経性大食症(bulimia nervosa(B N))は、それぞれ女性の 0.5 ～ 3.7 % および 1.1 ～ 4.2 % が、生涯のうちに罹患する疾患である。男性の罹患率は、女性の約 10 % であると言われている。主として、思春期・青年期の女性に多く、痩せを希求する心理が著明である。我が国の摂食障害は近年増加しており、1980 年からの 20 年間に約 10 倍の増加が見られる。神経性無食欲症の主な症状として、無食欲、やせ、無月経などがあり、神経性無食欲症の特徴は、正常体重の最低限の維持を拒否することである。神経性大食症の主な症状として、「気晴らし食い」と呼ばれる過食行動を頻繁に繰り返す行動、過食直後に嘔吐あるいは下剤を乱用する不適切な代償行動などが見られる。このように両者は全く正反対の病態のように見えるが、神経性無食欲症が数カ月後に神経性大食症へと症状変遷したり、逆に、神経性大食症がしばしば神経性無食欲症のような症状を呈することがある。つまり、神経性無食欲症と神経性大食症は全く別の疾患ではなく、相互

に移行したり重複したりするような病態であり、その患者は非常に多様でその病像も複雑である。体型と体重への認知の障害は、神経性無食欲症および神経性大食症の本質的な特徴である。

【0003】

例えば、セロトニンは視床下部内側部の摂食停止機構に作用して、特に炭水化物の摂取抑制をする。神経性大食症では高エネルギー食に対する強い嗜好や1回摂取量の著明な増加を示しており、セロトニン神経系の異常が強く示唆されている。食行動異常においては脳内過程だけでなく、末梢レベルでも摂食調節機構の破綻が認められている。コレシストキニンは末梢性の満腹信号物質で、迷走神経を介して中枢に伝えられ摂食を中止させる。神経性無食欲症ではコレシストキニンの食事負荷時の過剰応答が観察され、逆に神経性大食症ではこの食事性応答が消失していると考えられている。またコレシストキニンの中枢系への信号伝達は、セロトニン神経系を介することが動物実験より分かっており、セロトニン神経系の機能異常に関連してこの伝達過程に障害が生じている可能性が指摘されている。神経性無食欲症や神経性大食症などの疾患では、摂食障害以外にも多彩な精神身体症状がある。その原因解明のため、脳脊髄液や血液中の摂食調節物質の動態が調べられているが、多くは摂食異常の結果として2次的に起こる反応であり、その動態を引き起こすような変化を示すものは限られている。

【0004】

このような神経性無食欲症や神経性大食症などの摂食障害の診断には、血液や尿などの患者のサンプルを用いた研究が報告されているが、未だに確立されたものは無い。病態の特殊性から早期診断、治療、社会復帰活動、再発予防といった包括的な治療体系の確立が望まれている。摂食障害の治療には、薬物治療、認知行動療法、集団行動療法などが用いられている。薬物治療としては、抗うつ薬などが用いられている(例えば、非特許文献1、非特許文献2参照)。

【0005】

脳由来神経栄養因子(BDNF)は、脳内で発見された神経栄養因子の一つであり、脳内神経回路網の形成や発達、さらにはその生存維持に重要な役割を果たしていることが判明している。さらに1990年代後半には、脳由来神経栄養因子

はシナプスの可塑性にも関与し、記憶や学習にも重要な役割を果たしていることが知られており、また神経細胞死に対して神経保護作用も有する事が報告されている。セロトニン取り込み阻害薬などの抗うつ薬の慢性投与により、ラット海馬における脳由来神経栄養因子の量が増加することが示唆されており、脳由来神経栄養因子とセロトニン神経系との関係も指摘されている。最近の遺伝子改変動物を用いた研究より、脳由来神経栄養因子は摂食行動にも関与している事が示唆されている(例えば、非特許文献3参照)。しかしながら、摂食障害の患者における脳由来神経栄養因子の役割等については報告が無い。

【0006】

【非特許文献1】

マサンド, P S 著、Selective serotonin-reuptake inhibitors: an update.、Harvard Rev Psychiatry (1997) 7: 69-84

【非特許文献2】

カイヤ W 著、Serotonin neuronal function and selective serotonin reuptake inhibitor treatment in anorexia and bulimia nervosa.、Biol Psychiatry (1998) 44: 825-38

【非特許文献3】

ライオンズ, WE 著、Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities.、Proc Natl Acad Sci USA (1999) 96: 15239-15244)

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

神経性無食欲症および神経性大食症は、前述したとおり、近年、急増している疾患であるが、その症状は一見すると相反する病態であり、また多様で複雑であるため、その診断が困難であり、早期に適切な処置を講じることができず、そのことが症状をさらに悪化させる原因になっている。従って、医療の現場から摂食障害の早期に診断するような診断薬および診断方法の開発が望まれている。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行なった結果、摂食障害の患者の血清中脳由来神経栄養因子のレベルが、健常者のそれと比較して有意に低下していることを見出し、その違いを利用することにより、抗脳由来神経栄養因子抗体を用いて摂食障害の診断が可能となることを知った。本発明にかかる知見に基づいて完成されたものである。

【0009】

すなわち、本発明は；

1. 抗脳由来神経栄養因子抗体を主成分とすることを特徴とする摂食障害診断薬；
2. 患者の血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定するための上記1に記載の摂食障害診断薬；
3. 抗脳由来神経栄養因子抗体および標識化抗脳由来神経栄養因子抗体を含む上記1または2に記載の摂食障害診断薬；
4. 抗脳由来神経栄養因子抗体および標識化剤を主成分とすることを特徴とする摂食障害の診断キット；
5. 患者の血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定するための上記4に記載の摂食障害の診断用キット；
6. 抗脳由来神経栄養因子抗体および標識化抗脳由来神経栄養因子抗体を含む上記4または5に記載の摂食障害の診断キット；
7. 抗脳由来神経栄養因子抗体を用いることを特徴とする摂食障害の検定方法；
8. 抗脳由来神経栄養因子抗体を用いることを特徴とする摂食障害の治療薬の検定方法；
9. 動物の血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定する上記7に記載の摂食障害の検定方法；
10. 抗脳由来神経栄養因子抗体および標識化抗脳由来神経栄養因子抗体を含む上記8または9に記載の摂食障害の検定方法；
11. 摂食障害の治療薬としての脳由来神経栄養因子を増加させる化合物；等

に関する。

【0010】

以下、本明細書における用語の意味あるいは定義について述べる。「抗脳由来神経栄養因子抗体」とは、脳由来神経栄養因子を抗原として用いて精製された抗体をいう。該抗体は、脳由来神経栄養因子に結合する能力があればよく、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体を含む。また好ましいものとしては、特異的に脳由来神経栄養因子に結合するポリクローナル抗体、モノクローナル抗体等が挙げられる。

【0011】

「標識化抗脳由来神経栄養因子抗体」とは、脳由来神経栄養因子抗体をペルオキシダーゼ、 β -D-ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、グルコース-6-リン酸脱水素酵素等の酵素、デルフィニウム等の蛍光標識、放射性同位元素標識または同位元素標識、ビオチン等を結合させ、脳由来神経栄養因子を定量化できるように工夫された抗体をいう。更に、「標識化抗脳由来神経栄養因子抗体」には、ビオチン、2,4-ジニトロフェノール等で修飾した抗脳由来神経栄養因子も含まれる。この際には、該標識化抗脳由来神経栄養因子抗体に標識化したアビジン、標識化抗2,4-ジニトロフェノール抗体を更に用いて定量化できる。

【0012】

「摂食障害」とは神経性無食欲症および神経性大食症を含み、思春期・青年期の女性に多く、食行動の重篤な障害である。神経性無食欲症の特徴は、正常体重の最低限の維持を拒否することであり、神経性大食症の特徴は、無茶食いエピソードの繰り返しと、それに付随する自己誘発性嘔吐や下痢・利尿剤・他の薬剤の乱用、絶食、過度な運動などの不適切な代償行動である。体型と体重への認知の障害は、神経性無食欲症および神経性大食症の本質的な特徴である。

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明による摂食障害の診断は、例えば次のようにして行なうことが出来る。ヒトの血液から血清を調製し、血清中の脳由来神経栄養因子の量を種々の方法に

より定量する。望ましくは脳由来神経栄養因子に対して特異性の高い抗体を用いたサンドイッチELISAによって脳由来神経栄養因子を検出・定量する。摂食障害の血清中の脳由来神経栄養因子の濃度が、健常者の値より有意に低いことを利用し、摂食障害を診断する。

【0014】

具体的な血清中の脳由来神経栄養因子を測定する方法としては、例えば

1. ポリスチレン、ナイロン、ガラス、シリコンラバー、セファロース等の固相に抗脳由来神経栄養因子抗体を固定する工程；
2. 診断する患者の血清を固相に加える、または接触させる工程；
3. 固相を洗浄する工程；
4. 標識化された抗脳由来神経栄養因子抗体を加える、または接触させる工程；
5. 該標識を用いて、脳由来神経栄養因子の量を測定する工程からなる方法等が挙げられる。

【0015】

更に、具体的な血清中の脳由来神経栄養因子を測定する方法としては、例えば

1. ポリスチレン、ナイロン、ガラス、シリコンラバー、セファロース等の固相に抗脳由来神経栄養因子抗体を固定する工程；
 2. 診断する患者の血清を固相に加える、または接触させる工程；
 3. 固相を洗浄する工程；
 4. ビオチンまたは2,4-ジニトロフェノールで修飾した抗脳由来神経栄養因子抗体を加える、または接触させる工程；
 5. 標識化アビジンまたは標識化2,4-ジニトロフェノール抗体を加える、または接触させる工程；
 6. 該標識を用いて、脳由来神経栄養因子の量を測定する工程；
- からなる方法等が挙げられる。

【0016】

更に、具体的な血清中の脳由来神経栄養因子を測定する方法としては、例えば

1. ポリスチレン、ナイロン、ガラス、シリコンラバー、セファロース等の固相に抗脳由来神経栄養因子抗体を固定する工程；
 2. 診断する患者の血液を固相に加える、または接触させる工程；
 3. 固相を洗浄する工程；
 4. ビオチンで修飾した抗脳由来神経栄養因子抗体を加える、または接触させる工程；
 5. 標識化アビジンを加える、または接触させる工程；
 6. 該標識を用いて、脳由来神経栄養因子の量を測定する工程；
- からなる方法等が挙げられる。固相の形状として小球、ウェル、試験管等が挙げられる。

【0017】

抗原またはELISAのスタンダードとして用いられる脳由来神経栄養因子は市販されているか、または以下の方法で調製することができる。遺伝子工学的手法を用いる場合、脳由来神経栄養因子をコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを適切な宿主に挿入して形質転換し、この形質転換の培養上清から目的とする組換え脳由来神経栄養因子を得ることができ、均質な多量の脳由来神経栄養因子の生産に好適である。上記宿主細胞は特に限定されず、従来から遺伝子工学的手法で用いられている各種の宿主細胞、例えば大腸菌、枯草菌、酵母、植物または動物細胞を用いることができる。

【0018】

抗脳由来神経栄養因子抗体は、脳由来神経栄養因子を抗原として、ウサギ、ニワトリ、シチメンチョウなどに免疫することにより、調製される。標識化抗脳由来神経栄養因子抗体は、抗脳由来神経栄養因子抗体をビオチン化試薬や架橋剤付キペルオキシダーゼの市販されているキットを用いて、反応させ、調製することができる。

【0019】

本発明方法は、また摂食障害の治療薬の判定にも有用である。すなわち、脳由来神経栄養因子を増加させる作用を有する化合物は、摂食障害の治療薬として有

用である可能性がある。また、脳由来神経栄養因子の量が低いモデル動物(マウスやラットなど)は、摂食障害の動物モデルとしても有用である。従って、この検定方法を利用することにより、新しい摂食障害の治療薬のスクリーニングも行なうことが可能である。

【0020】

このような方法で見出される治療薬には、非経口的または経口的に投与できる薬物が含まれ得る。その治療薬の正確な投与量および投与計画は、個々の治療対象毎の所要量、治療方法、疾病または必要性の程度、および、当然医師の判断による必要がある。非経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば注射剤として皮下または静脈に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日当たり約0.1mg～約2500mgの範囲、好ましくは約1mg～約500mgの範囲から投与量が選択され、例えば噴霧剤として気管に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日当たり約0.1mg～約2500mgの範囲、好ましくは約1mg～約500mgの範囲から投与量が選択される。投与計画としては、連日投与または間欠投与またはその組み合わせがある。経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば、成人の患者の体重1kg、一日当たり約0.5mg～約2500mgの範囲、好ましくは約1mg～約1000mgの範囲から投与量が選択される。

【0021】

本発明の方法で得られる摂食障害の治療薬を薬学的に許容しうる非毒性の担体と混和することにより医薬組成物を製造することができる。このような組成物を、非経口投与用(皮下注射、筋肉注射、または静脈注射)に調製する場合は、特に溶液剤形または懸濁剤形がよく、膣または直腸投与用の場合は、特にクリームまたは坐薬のような半固形型剤形がよく、経鼻腔投与用の場合、特に粉末、鼻用滴剤、またはエアロゾル剤形がよい。

【0022】

組成物は一回量投与剤形で投与することができ、また例えばレミントンの製薬科学(マック・パブリッシング・カンパニー、イーストン、PA、1970年)に

記載されているような製薬技術上良く知られているいずれかの方法によって調製できる。注射用製剤は医薬担体として、例えば、アルブミン等の血漿由来蛋白、グリシン等のアミノ酸、マンニトール等の糖を加えることができる。注射剤形で用いる場合には更に緩衝剤、溶解補助剤、等張剤等を添加することもできる。また、水溶製剤、凍結乾燥製剤として使用する場合、凝集を防ぐために Tween 80 (登録商標)、Tween 20 (登録商標) などの界面活性剤を添加するのが好ましい。また注射剤以外の非経口投与剤形は、蒸留水または生理食塩液、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化したナフタレン等を含有してもよい。例えば坐薬のような膣または直腸投与用の製剤は、一般的な賦形剤として例えばポリアキレングリコール、ワセリン、カカオ油脂等を含有する。膣用製剤では、胆汁塩、エチレンジアミン塩、クエン酸塩等の吸収促進剤を含有しても良い。吸入用製剤は固体でも良く、賦形剤として例えばラクトースを含有してもよく、また経鼻腔滴剤は水または油溶液であってもよい。

【0023】

【実施例】

以下に、本発明の実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されない。

【0024】

実施例 1

(1) 被験者

後記表 1 に示す神経性大食症の女性患者 18 名 (平均年齢：21.6 歳 (標準偏差 4.0)、年齢範囲：16 歳～34 歳) および神経性無食欲症の女性患者 12 名 (平均年齢：19.6 歳 (標準偏差 5.9)、年齢範囲：14 歳～34 歳)、ならびに同一年齢層の健康者 (平均年齢：21.6 歳 (標準偏差 1.7)、年齢範囲：20 歳～25 歳) も正常対照として被験者に選んだ。神経性大食症または神経性無食欲症のすべての患者は「精神障害の診断と統計マニュアル IV」 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV: DSM-IV) に従って診断し、神経性無食欲症の患者は 2 つのサブタイプ、制限型 (Restricting Type) (n = 7)

、および無茶食い／排出型(Binge-Eating/Purging Type)($n=5$)、に分類した。実験対象すべてに対しBITE(the Bulimic Investigatory Test, Edinburgh)と17項目ハミルトンうつ病評価尺度(HDRS)を付した。BITEは33項目自己申告性アンケート(self-report questionnaire)であり、神経性大食症や無茶食い／排出型の症状の対象を識別するための多様な設定に利用できるか否かの客観的スクリーニングとしてデザインされている。臨床上有意の限界尺度は症状スコアが20あるいはそれ以上である(ヘンダーソンら、(1987) A self-rating scale for bulimia. The BITE'. Br J Psychiatry 150: 18-24)。17項目HDRSは抑鬱症候学(depressive symptomatology)の測定に用いた。体重と身長および肥満度指数(BMI: kg/m^2)を測定した。神経性無食欲症および神経性大食症の患者の罹患期間はそれぞれ平均1.8年(標準偏差1.7)および3.8年(標準偏差2.5)であった。治療の為に投与した抗精神病薬は、神経性大食症の患者にはリスペリドン(risperidone、 $4\text{ mg}/\text{日}$; $n=1$)、フルボキサミン(flvoxamine、 $50-150\text{ mg}/\text{日}$; $n=4$)、パロキセチン(paroxetine、 $20\text{ mg}/\text{日}$; $n=1$)、トラゾドン(trazodone、 $25\text{ mg}/\text{日}$; $n=1$)、および神経性無食欲症の患者にはパロキセチン(paroxetine、 $20-30\text{ mg}/\text{日}$; $n=2$)、リスペリドン(risperidone、 $1\text{ mg}/\text{日}$; $n=1$)であった。患者中、20患者は投薬治療を行っていなかった。

【0025】

(2)実験方法

被験者の血清検体を採取し、測定まで -80°C で保存した。BDNFの血清レベルは脳由来神経栄養因子測定キット(プロメガ社、米国)を用い、製造者の指示に従って測定した。すなわち、抗脳由来神経栄養因子モノクロナル抗体を96穴プレートにコーティングし、 4°C で18時間インキュベーションした。プレートをブロッキング緩衝液にて室温で1時間ブロッキング処理した。緩衝液で洗浄した後、希釈した血清 $100\mu\text{L}$ を添加した。定量用のスタンダードとして、ヒト脳由来神経栄養因子($78-5000\text{ pg}/\text{mL}$)を添加したものを用了。室温で2時間反応させた後、緩衝液で5回洗浄し、抗ヒト脳由来神経栄養因子抗体を添加し室温で2時間反応させた。緩衝液で5回洗浄した後、抗ワサビペルオキ

シダーゼ標識 I g Y 抗体(100 μ L)を添加し、室温で1時間反応させた。次に、緩衝液で5回洗浄した後、TMB 溶液(100 μ L)を添加し、室温で10分間反応させた後、停止液(1M塩酸：100 μ L)を添加して反応を止め、30分以内に450 nm 波長での吸光度を自動マイクロプレートリーダー(E m a x、モレキュラーデバイス、米国)で測定した。検体中の脳由来神経栄養因子の含量をサンドイッチ型 E L I S A 法にて測定し、検量線からその脳由来神経栄養因子の濃度を算出した。

【0026】

(3)統計分析

データは平均値±標準偏差で示した。3群の差は一元配置分散分析(A N O V A)で解析した。治療方法間の多重比較のため、ボンフェロニ・ダンテストを行った。2群間の統計分析はスチューデント t テストを用いて行った。変数間の関係はピアソンの積率相関係数で確認した。0.05以下の p 値は統計的に有意とした。

【0027】

(4)結果

表1に被験者の特徴および上記実験結果を示す。

【表 1】

| | NC (N=21) | AN (N=12) | BN (N=18) | p |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|------------------------------|
| 年齢(歳) | 21.3 (1.71) | 19.6 (5.89) | 21.6 (3.97) | NS |
| 罹患期間(年) | | 1.76 (1.33) | 3.72 (2.36) | 0.013* |
| 体重(kg) | 50.8 (4.60) | 38.1 (4.55) | 50.4 (4.96) | <0.0001** |
| BMI (kg/m ²) | 20.0 (1.54) | 15.3 (1.84) | 20.4 (2.09) | <0.0001** |
| BDNF (ng/ml) | 61.4 (19.5) | 24.9 (6.75) | 38.4 (15.3) | <0.027*, <0.0001*, <0.0001** |
| BITE 症状尺度 | 5.86 (5.94) | 17.25 (7.45) | 23.78 (2.73) | 0.003*, <0.0001*, <0.0001** |
| BITE 重症度尺度 | 1.90 (3.77) | 7.08 (5.55) | 12.3 (6.49) | 0.011*, <0.0093*, <0.0001** |
| 17 項目 HDRS | 7.67 (6.14) | 18.25 (6.11) | 19.39 (6.03) | <0.0001*, <0.0001** |

NC=正常対照; AN=神経性無食欲症; BN=神経性大食症
 BMI=肥満度指数;
 BDNF=脳由来神経因子;
 BITE=過食症検査試験、エジンバラ;
 17 項目 HDRS=17 項目ハミルトンうつ病評価尺度
 値は平均値(SD)
 NS=有意ではない
 p*=AN と BN 間の比較; p*=AN と NC 間の比較; p*=BN と NC 間の比較

【0028】

i) 全被験者における血清BDNFの濃度

正常対照(NC)、神経性大食症(BN)および神経性無食欲症(AN)の被験者に

における血清BDNF濃度の散布状態を図1に示す。

一元ANOVAは3群間の有意差($F=22.33$ [2, 48], $p<0.0001$)を示し、ボンフェロニ・ダンテストは、正常対照でのBDNF血清レベル(平均値: 61.4 ng/ml [標準偏差: 19.5])はBN患者(平均値: 38.4 ng/ml [標準偏差: 15.3], $p<0.0001$)やAN患者(平均値: 24.9 ng/ml [標準偏差: 6.75], $p<0.0001$)よりも有意に高いことが判明した。BN患者のBDNF血清レベルは有意に($p=0.027$)AN患者より大きかった。3群間の年齢による差は見られなかった(表1)。無茶食い/排出型AN患者($n=5$)のBDNF血清レベル(平均値: 27.82 ng/ml [標準偏差: 6.76])は制限型AN患者($n=7$)のBDNF血清レベル(平均値: 22.83 ng/ml [標準偏差: 6.39])とは有意に違わなかった(スチューデントt-テスト、 $p=0.222$)。すべての群($n=51$)を総合して、血清BDNF値と年齢間に有意な相関($r=0.079$, $p=0.585$)はなかった。すべての患者($n=30$)において、血清BDNF値と罹患期間の間に有意な相関($r=0.04$, $p=0.836$)はなかった。

【0029】

i i) 血清BDNFと血清BMI

全被験者の血清BDNF値と血清BMI値の相関関係を図2に示す。

一元ANOVAは3群間($F=32.76$ [2, 48], $p<0.0001$)に有意な差を示し、ボンフェロニ・ダンテストは正常対照のBMI値(平均値: 20.01 kg/m^2 [標準偏差: 1.54])がAN患者の値(平均値: 15.33 kg/m^2 [標準偏差: 1.84])に比べて有意に高いこと、しかし正常対照とBN患者(平均値: 20.36 kg/m^2 [標準偏差: 2.09])の間には有意な差はないことを示した。すべての群($n=51$)を総合して、血清BDNF値とBMIの間に有意な正相関($r=0.378$, $p=0.006$)があった(図2参照)。さらに、血清BDNF値とBMIの間にも有意な正相関($r=0.396$, $p=0.030$)がすべての患者($n=30$)で見られた。しかしながら、すべての群($n=51$)を総合して、BMIと年齢間には有意な相関($r=-0.044$, $p=0.761$)はなかった。したがって、未投薬患者の血清BDNF値は投薬治療されたA

N患者(スチューデント t-テスト、 $p=0.222$)および投薬治療されたBN患者(スチューデント t-テスト、 $p=0.230$)と違いはなかったことが判明した。

【0030】

iii)血清BDNF値と臨床評価尺度の比較

iii-1)BITEと17項目HDRS

表1に示す3群のBITEと17項目HDRSスコアにみられるように、一元ANOVAは3群間の有意差($F=53.30$ [2, 48], $p<0.0001$)を示し、ボンフェロニ・ダンテストは正常対照のBITE値(平均値: 5.86 [標準偏差: 5.94])はAN患者の値(平均値: 17.25 [標準偏差: 7.45])やBN患者の値(平均値: 23.78 [標準偏差: 2.73])に比べて有意に低いこと($p<0.0001$)を示した。BN患者のBITEスコアはAN患者の値と比べて有意に高かった($p=0.003$)。すべての群($n=51$)を総合して、BITEスコアと年齢間に有意な相関はなかった($r=-0.078$, $p=0.585$)。

さらに、全被験者におけるBITEスコアとHDRS間の相関関係を図4に示す。図4に示されるように、有意な正相関($r=0.782$, $p<0.0001$)があった。

【0031】

iii-2)血清BDNFと17項目HDRSスコア

全被験者の血清BDNF値と、HDRSスコアとの相関関係を図3に示す。すべての被験者($n=51$)においてHDRSと血清BDNF値の間に有意な負相関($r=-0.447$, $p=0.001$)が認められた。

一元ANOVAは3群間の有意な差異($F=21.23$ [2, 48], $p<0.0001$)を示し、ボンフェロニ・ダンテストは、正常対照の17項目HDRS値(平均値: 7.67 [標準偏差: 6.14])が、AN患者の値(平均値: 18.25 [標準偏差: 6.11])やBN患者の値(平均値: 19.39 [標準偏差: 6.03])と比べて有意($p<0.0001$)に高かった。

【0032】

上記実験結果に見られるように、摂食障害(ANおよびBN)の女性患者の血清BDNF値は同一年齢層の女性正常対照の値と比べて有意に減少しており、またAN患者の血清BDNF値はBN患者の値と比べて有意に低いことがわかった。血清BDNF値はHDRSスコア、抑鬱症状の測定、と反比例して相関していることも明白である。また、すべての被験者において、血清BDNF値とBMI値の間に有意な相関があった。しかしながら、正常BMI値であるBN患者の血清BDNF値は正常対照の値に比べて有意に低く、これは低下した血清BDNF値は減少したBMI値によるものではないことを示唆している。総合すれば、減少した血清BDNF値は摂食障害の病態生理学に寄与しているものと考えられる。

【0033】

摂食障害の主たる行動上の異常は摂食量の調節における機能不全、例えば制限、過食、排出である。上記実験の摂食障害の患者はそのBMI値とBITEスコアで代表される異常な行動を示した。上記実験において、BMIとBITEに対するBDNF値に関して、BNとANの間に差異があったが、それは動物実験では予測出来なかった。低下したBDNF値は、無茶食いおよび排出行動および摂食障害の体重調節における維持機能を伴うことが可能である。一方、体重が増加すると、彼らは往々にして不安になり、過剰反応する。よって、体重の減少は原因ではなく低下したBDNF値に伴う摂食異常行動の結果である。

【0034】

要するに、本実験により、BDNFは摂食障害(ANおよびBN)の病態生理学において極めて重要な役割を果たし、血液BDNFは摂食障害の生物学的マーカーとして有用であろう。

【0035】

【発明の効果】

抗脳由来神経栄養因子抗体を有効成分とする摂食障害の診断薬であって、該抗体を用いて血液中の脳由来神経栄養因子を測定することによって、摂食障害が診断される。とくに、抗脳由来神経栄養因子抗体と標識化抗脳由来神経栄養因子抗体とを用いて患者血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定することによって該診断が容易に行われる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 正常対照(NC)、神経性大食症(BN)および神経性無食欲症(AN)の患者における血清BDNF濃度の散布図である。

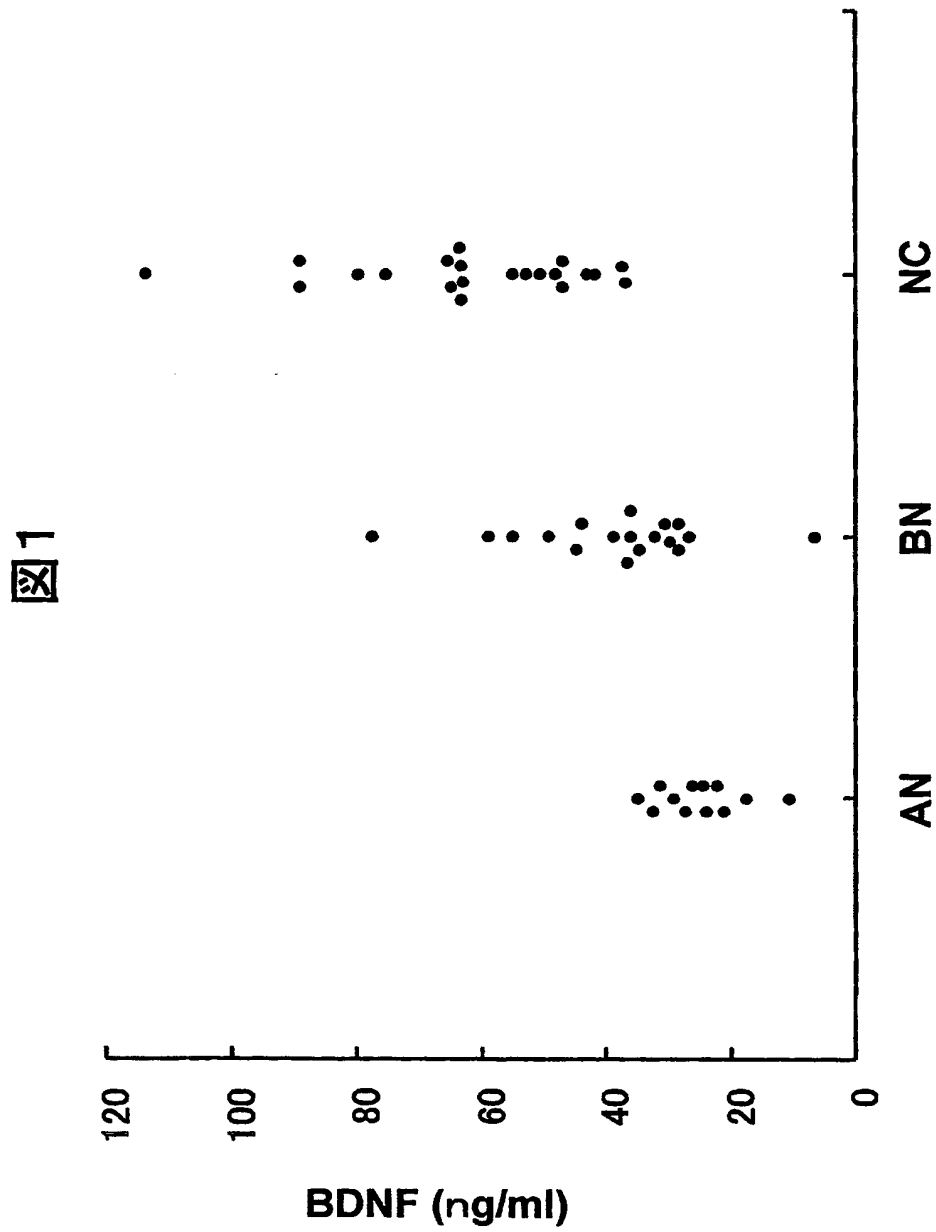
【図2】 全被験者における血清BDNF値と血清BMI値の間の相関関係を示す。

【図3】 全被験者における血清BDNF値とHDRSスコアとの間の相関関係を示す。

【図4】 すべての対象におけるHDRSスコアとBITEスコアの間の関係を示す。

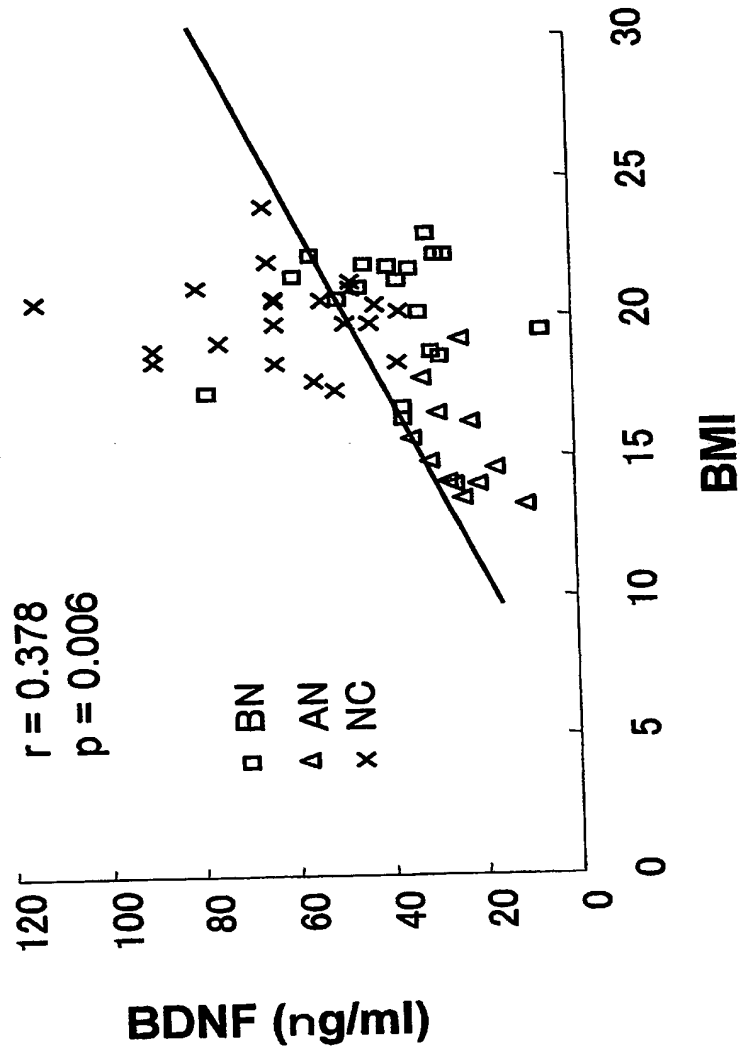
【書類名】 図面

【図 1】

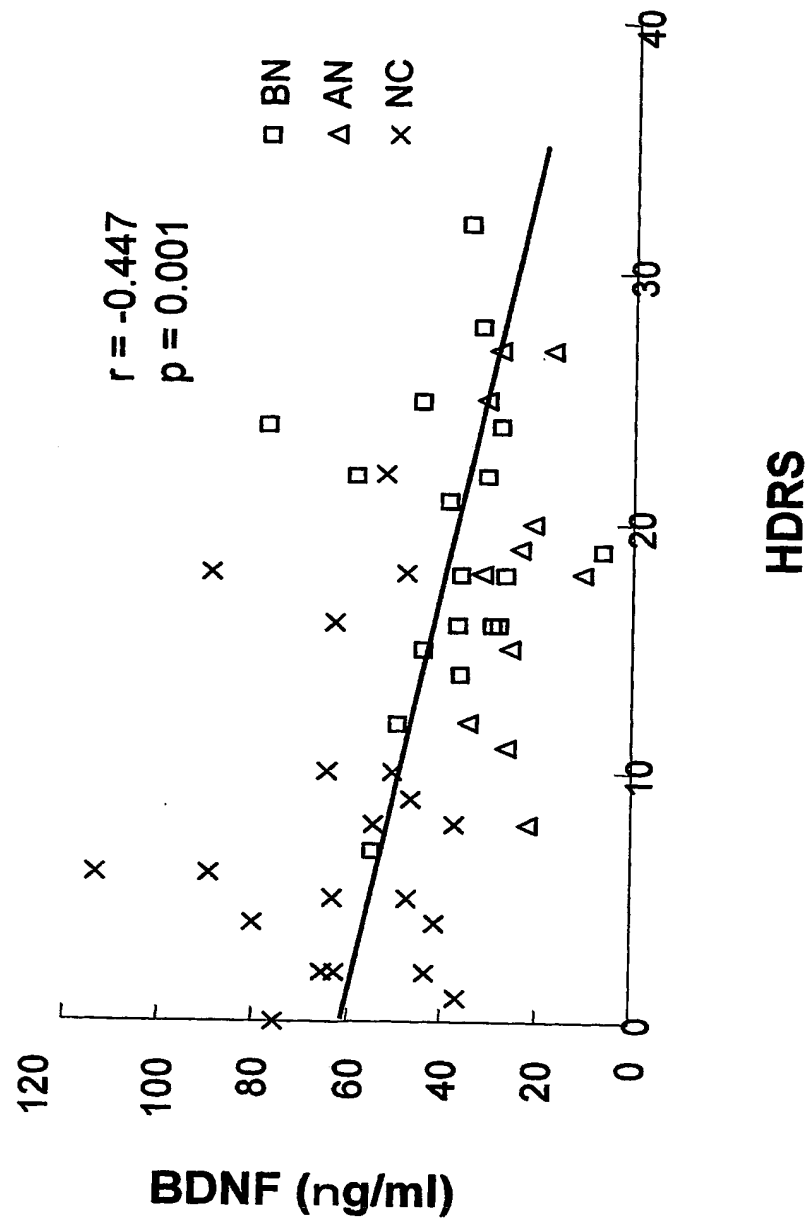


【図 2】

図 2

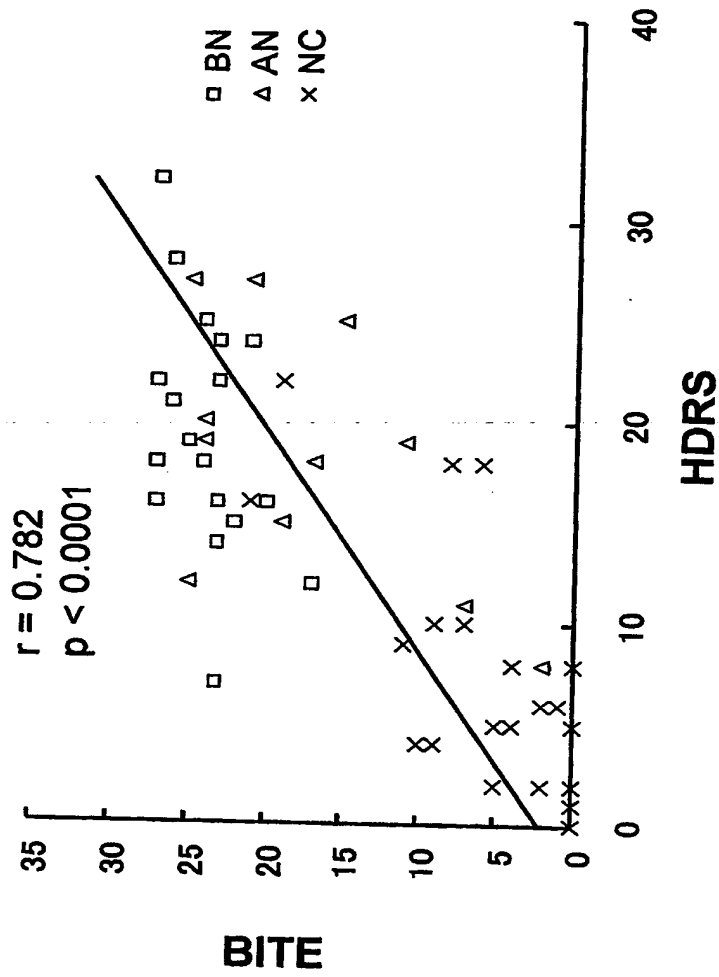


【図 3】



【図 4】

図 4



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 新しい摂食障害の診断薬を提供する。

【解決手段】 抗脳由来神経栄養因子抗体を有効成分とする摂食障害の診断薬であって、該抗体を用いて血液中の脳由来神経栄養因子を測定することによって、摂食障害が診断される。とくに、抗脳由来神経栄養因子抗体と標識化抗脳由来神経栄養因子抗体とを用いて患者血液中の脳由来神経栄養因子の濃度を測定することによって該診断が容易に行われる。

【選択図】 なし

特願 2002-277218

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[502347179]

1. 変更年月日

2002年 9月24日

[変更理由]

新規登録

住 所

千葉県千葉市花見川区幕張本郷7丁目21番15号

氏 名

伊豫 雅臣